喷施6-BA对不同种植密度白刺叶衰老的影响

靳 维， 王晨林， 任宇辰， 张慧芳， 杨秀清

（山西农业大学林学院，山西 晋中 030801）

摘 要：研究了两种种植密度（低密度种植株行距：1.2 m×1.5 m、高密度株行距：0.8 m×1.0 m）下白刺生长期外源喷施不同浓度6-BA（0 mg·L^{-1}、10 mg·L^{-1}、20 mg·L^{-1}、30 mg·L^{-1}）后叶光合参数（Pn、Tr、Gs、Ci）、叶绿素（Chl）及叶片渗透调节物质脯氨酸（Pro）、可溶性蛋白（SP）含量、活性氧代谢及抗氧化酶活性的动态变化及其变异规律，探讨6-BA及种植密度对白刺叶衰老的影响及作用机理。结果表明：20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度种植下的白刺叶Pn、Tr、Gs较未经6-BA处理显著高出37.72%、117.94%、83.18%，而Ci值较对照显著降低32.29%。相较其他6-BA处理的两种种植密度下白刺叶衰老相关生理指标，20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度种植的白刺在叶发育前期（t_1至t_3时期）可有效促进Chl和SP合成，叶发育后期（t_4、t_5时期）则可有效缓解Chl、SP、Pro降解和抑制MDA、H_2O_2含量增加。10 mg·L^{-1}和20 mg·L^{-1} 6-BA处理可促进白刺叶生长前期抗氧化酶SOD、POD、CAT活性的增加，减缓叶生长后期酶活性的下降。相同浓度6-BA处理的3种酶活性均表现为低密度>高密度。主成分及隶属函数分析综合表明，花芽萌动至果实脱落期间以20 mg·L^{-1} 6-BA每隔10 d（共8次）处理低密度种植下的白刺叶片抗衰老能力最强。喷施6-BA和减小种植密度可作为缓解白刺叶衰老、实现白刺高效种植及资源有效开发利用的重要技术措施。

关键词：白刺；6-苄基腺嘌呤（6-BA）；种植密度；叶衰老生理特性

细胞分裂素（CK）是一类由N^6-腺嘌呤衍生物组成的小分子植物激素，在植物生长发育、衰老、抗病、抗逆等生命活动中发挥重要作用[1]。外源6-苄基腺嘌呤（6-BA）作为人工合成的细胞分裂素类植物生长调节物质，能够增加植物体内细胞分裂素水平，抑制和清除自由基，调节营养物质的运输，促进新陈代谢[2]。研究发现，6-BA可能通过抑制氧自由基对植物的侵害及膜脂过氧化程度的加深，使甜瓜[3]、棉花[4]叶片保持较高的抗氧化酶活性，延缓葡萄[5]叶片的叶绿素含量和净光合速率（Pn）的下降，增加老芒麦[6]幼苗叶片可溶性糖、蛋白及游离脯氨酸的含量，抑制草莓[7]叶片细胞质膜透性的增大和丙二醛（MDA）含量的增加，从而延缓这些植物叶片的衰老。研究表明，种植密度对植物叶片衰老的影响也至关重要。一定范围内种植密度的增加会缩短油菜叶片功能期、降低叶片的光合性能，使其提前衰老，进而造成减产[8]。低密度种植有利于增加燕麦叶片的光合效率、延缓衰老[9]，密植可以加快水稻叶绿素分解和蛋白质含量的下降[10]。

唐古特白刺（*Nitraria tangutorum* Bobr.）为蒺藜科白刺属超旱生灌木，广泛分布于我国西北荒漠地区的重要生态兼经济型树种[11]。白刺叶蛋白含量高，纤维含量低，是骆驼、山羊等很好的青绿饲料，具有良好的饲用品质和较高的饲用价值[12]。白刺叶具有调节血糖、降血压、降血脂、抗氧化、延缓衰老、抗砷毒和抑制癌细胞生长等功效，可入药或炮制药茶[13-14]，具有很好的开发前景。由于植物叶片衰老会导致光合速率降低和叶绿素、蛋白等降解反应，不仅影响叶片功能性营养物质的存储[15]，也严重影响了枝条营养及成熟果实品质的维持[16]。白刺作为叶、枝、果兼用型功能树种[17]，其叶片生长性状的好坏决定叶自身品质及利用价值的同时，也促进或限制了整个植株的生长，对白刺枝及果实的发育有重要影响。因此，如何维持白刺生长期叶片光合能力、提高叶渗透调节及活性氧代谢能力，有效延缓叶片衰老及保持好的叶生长性状，以提高叶生

收稿日期：2022-07-01； **修订日期：**2022-09-07
基金项目：山西省自然科学基金项目（201901D111224）；山西省重点研发计划（农业）项目（201703D221009-3）
作者简介：靳维（1997-），女，硕士研究生，主要从事森林资源培育研究. E-mail: 1002491499@qq.com
通讯作者：杨秀清. E-mail: xiuqingyang@sxau.edu.cn

长质量是目前实现白刺高效种植所关注的焦点问题之一,对白刺叶及枝、果的开发利用和产业化发展具有重要意义。

鉴于此,本文研究了不同种植密度白刺外源喷施6-BA后叶光合性能、渗透调节物质含量、抗氧化酶活性以及活性氧代谢的动态变化及其变异规律,探讨6-BA及不同种植密度对白刺叶衰老的影响及作用机理,以期为白刺高效种植及其资源的开发利用提供实践依据和技术支撑。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验于山西省晋中盆地太谷区小白乡白燕村的林木种质示范园(37°25′N,112°25′E)开展。供试材料为唐古特白刺3 a生移植苗。

1.2　试验设计

试验采用两种(种植密度)×4个(6-BA浓度)×6次重复双因子随机区组设计。2020年苗木移植时,设计两种不同种植密度进行穴植(3株·穴$^{-1}$),其中,高密度种植株行距为0.8 m×1.0 m,共计37440株·hm^{-2},低密度株行距为1.2 m×1.5 m,共计16650株·hm^{-2}。种植苗木生长期间配合田间常规管理。移植第2 a进行6-BA处理,从每个种植密度中随机选择72株(24穴)为标记植株,设4个6-BA处理浓度,即0 mg·L^{-1}(CK)、10 mg·L^{-1}、20 mg·L^{-1}、30 mg·L^{-1},每处理6次重复(包括6穴18株)。

1.3　试验处理及指标测定

参照朱立保等[3]的方法,在白刺花芽萌动开始至果实脱落(05-05—07-14)期间喷施6-BA,每隔10 d喷施1次,共喷施8次。将不同浓度6-BA均匀喷施于标记植株全部叶片,以水珠落于叶片而不滴下效果为宜。喷施时间为下午15:00—16:00。于第1次喷施后0 d(t_1)、20 d(t_2)、40 d(t_3)、60 d(t_4)、80 d(t_5)分别采集白刺各植株外围中上部叶片,湿纱布包裹置于冰盒内带回实验室,蒸馏水冲洗后拭干,锡箔纸包裹,液氮速冻,-80 ℃冰箱低温保存备用。光合特性于6-BA处理40 d(t_3)时用LI-6400XT便携式光合作用仪(LI-COR,Gene Company Ltd USA)测定。每株选取一片位置,大小相同,完全展开的功能叶片,测量时每个叶片记录3次数据。测定时间为晴朗无风的上午9:00—11:00,测定指标包括净光合速率(Pn)、蒸腾速率(Tr)、气孔导度(Gs)、胞间CO_2浓度(Ci)4个气体交换参数。叶绿素(Chl)含量采用丙酮提取法测定,可溶性蛋白(SP)采用紫外吸收法测定,游离脯氨酸(Pro)采用磺基水杨酸提取法测定,超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法测定,过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法测定,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定,过氧化氢(H_2O_2)含量采用硫酸钛比色法进行测定[18]。

1.4　数据统计分析

采用Excel 2010软件对数据进行汇总及初步处理,SPSS 26.0软件进行不同种植密度、喷施6-BA浓度及其交互作用对白刺叶各性状指标影响的方差分析,并进行不同种植密度及6-BA浓度间各指标的差异显著性检验,Duncan法进行多重比较。对8个处理下的指标标准化处理后进行主成分分析。Origin 2021软件进行作图。

其中主成分分析中综合指标权重按式(1)计算;综合指标的隶属函数值按式(2)计算;不同处理下白刺叶生理指标综合评价值按式(3)计算综合评价值[19]。

$$w_j = \frac{r_j}{\sum_{j=1}^{n} r_j} \tag{1}$$

式中:w_j 为第j个综合指标在所有综合指标中的重要程度即权重;r_j 为各处理下第j个综合指标的贡献率。

$$u(x_j) = \frac{x_j - x_{min}}{x_{max} - x_{min}} \tag{2}$$

式中:x_j 为第j个综合指标(j=1,2,…,n);$u(x_j)$ 为第j个综合指标的隶属函数值;x_{max} 和 x_{min} 分别为第j个综合指标的最大值与最小值。

$$D = \sum_{j=1}^{n} \left(u(x_j) w_j \right) \tag{3}$$

式中:D为不同处理下白刺叶生理指标综合评价值。

2　结果与分析

以采样日期为重复观测值,对种植密度、喷施6-BA浓度及其相互作用对白刺叶各性状指标的影响进行方差分析的结果(P值)可以看出(表1),种植密度、喷施6-BA浓度的单独效应对各指标的影响差异显著,而二者的交互作用对各指标影响差异不显著。故本文重点分析了各6-BA浓度处理下不同种

植密度、各种植密度基础上不同6-BA浓度处理白刺叶各性状指标随发育时间的动态变化及变异规律。

2.1 喷施6-BA对不同种植密度白刺叶光合参数的影响

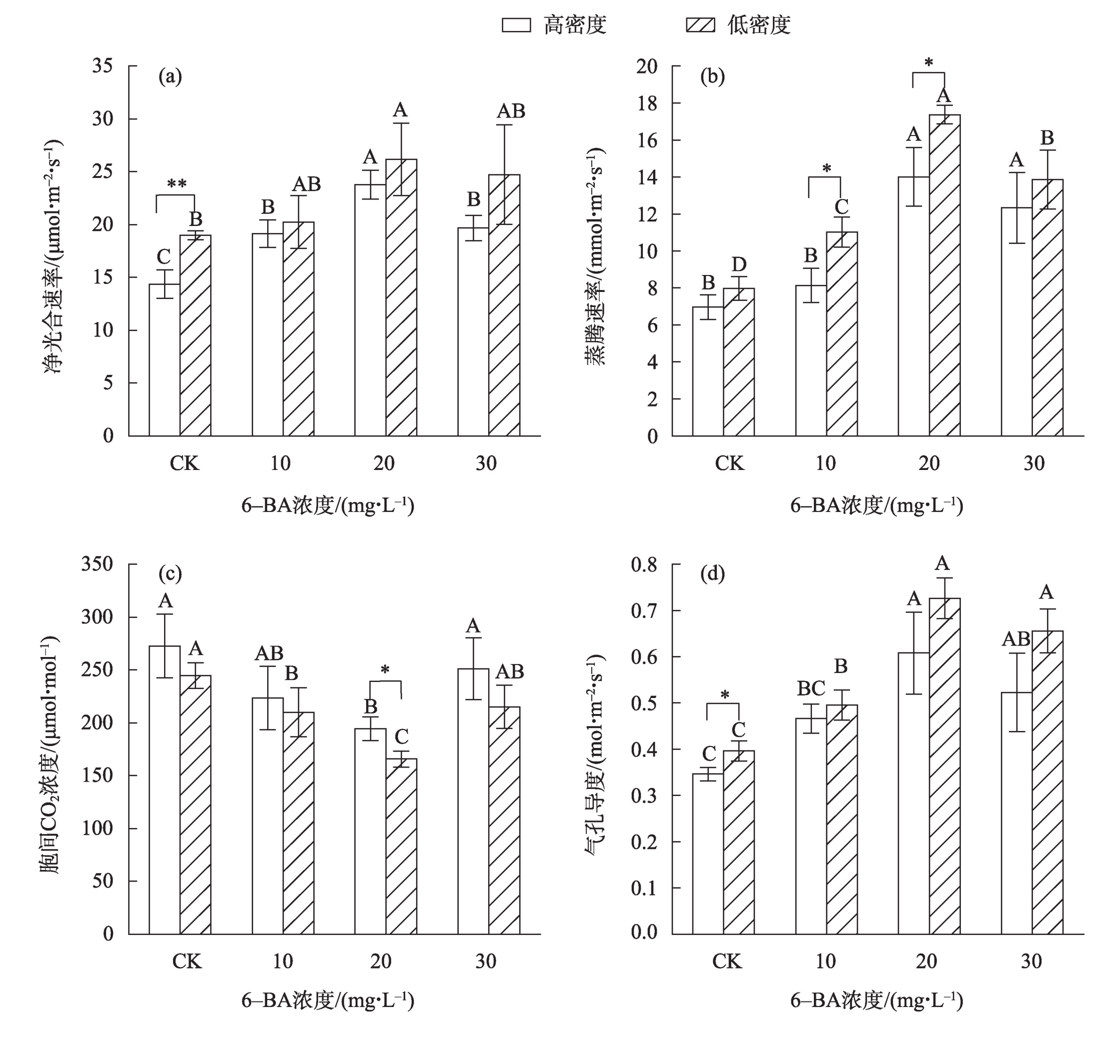
图1为6-BA处理40 d(t_3)时白刺叶在不同6-BA浓度和种植密度下的光合参数净光合速率(Pn)、蒸腾速率(Tr)、气孔导度(Gs)及胞间CO_2浓度(Ci)值。可以看出，2种密度种植下的白刺叶片Pn、Tr、Gs均以20 mg·L^{-1} 6-BA处理时最高，且显著高于对照。低密度种植下3项指标分别比对照显著高37.72%、117.94%、83.18%，高密度种植下3项指标分别比对照显著高65.43%、100.96%、75.63%。同一

表1　6-BA和密度对白刺叶片衰老特性影响的方差分析

Tab. 1　Anova of effects of 6-BA and density on senescence characteristics of *Nitraria tangutorum*

	Pn	Tr	Ci	Gs	Chl	Pro	SP	SOD	POD	CAT	H_2O_2	MDA
密度	0.004**	<0.001**	0.010*	0.001**	0.011*	0.026*	0.190	0.037*	<0.001**	0.181	<0.001**	<0.001**
浓度	<0.001**	<0.001**	<0.001**	<0.001**	0.010*	0.049*	0.748	0.453	<0.001**	0.163	0.176	0.008**
密度×浓度	0.463	0.305	0.844	0.279	0.521	0.765	0.997	0.612	0.785	0.892	0.954	0.964

注：Pn表示净光合速率；Tr表示蒸腾速率；Ci表示胞间CO_2浓度；Gs表示气孔导度；Chl表示叶绿素；Pro表示脯氨酸；SP表示可溶性蛋白；H_2O_2表示过氧化氢；MDA表示丙二醛；**表示$P<0.01$的显著水平，*表示$P<0.05$的显著水平。下同。



注：图中不同大写字母表示同一种种植密度不同6-BA浓度处理间差异显著($P<0.05$)；*表示同一6-BA处理不同种植密度间差异显著($P<0.05$)；**表示同一6-BA处理不同种植密度间差异极显著($P<0.01$)。

图1　喷施6-BA对不同种植密度白刺叶气体交换参数的影响

Fig. 1　Effects of spraying 6-BA on gas exchange parameters of *Nitraria tangutorum* with different planting densities

浓度6-BA处理下,3项指标均表现为低密度>高密度,且Pn、Gs在CK、Tr的10 mg·L^{-1}、20 mg·L^{-1} 6-BA处理下差异显著。叶Ci在20 mg·L^{-1} 6-BA处理下达最低值,两种种植密度下的叶Ci与对照相比,低密度和高密度种植分别显著降低32.29%和28.73%。相同浓度6-BA处理下的Ci表现为低密度<高密度,且在20 mg·L^{-1} 6-BA处理时差异显著。这表明,适宜的种植密度以及喷施6-BA可有效促进唐古特白刺叶光合作用的进行。

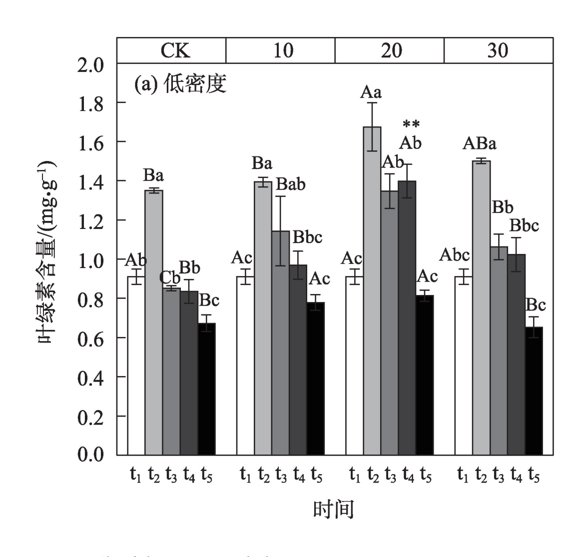
2.2　喷施6-BA对不同种植密度白刺叶绿素含量的影响

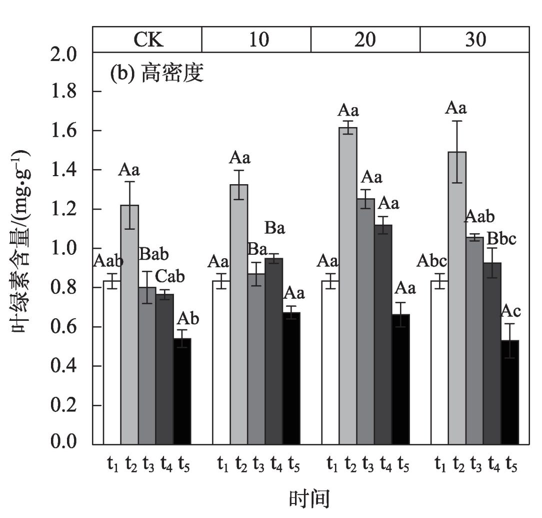
由图2可知,两种密度种植下的唐古特白刺在喷施不同浓度6-BA后,各采样期叶绿素(Chl)含量都高于对照,尤其以20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度下生长的白刺Chl含量在各时期都显著高于对照,t_2、t_3、t_4、t_5时期较相同取样时间对照分别显著提高23.98%、58.10%、67.38%、20.89%。同时,该处理下Chl含量在叶发育前期t_2时期升高最快,较t_1相对增加52.96%,在叶发育中后期t_3、t_4、t_5时期下降最慢,较t_1相对减少25.53%、6.4%、14.49%。相同浓度6-BA处理下的Chl含量在各采样期均表现为低密度>高密度,且在20 mg·L^{-1}处理60 d时呈差异极显著性。这表明,适宜的种植密度以及喷施6-BA在叶发育前期可有效促进Chl生成,后期则可有效抑制Chl降解。

2.3　喷施6-BA对不同种植密度白刺叶SP和Pro的影响

两种密度种植下的唐古特白刺在喷施不同浓度6-BA后叶中可溶性蛋白(SP)均在t_3时期含量达到最高,之后下降,至t_5时期含量最低,与未喷施6-BA对照组随发育时间的变化规律一致(图3)。其中,仅20 mg·L^{-1} 6-BA处理下两种种植密度的白刺叶发育中后期(t_3至t_5时期)SP含量较相同取样时间的对照均显著提高。该处理下低密度和高密度种植的白刺叶SP含量在t_3时期升高最快,分别较t_1相对增加101.96%和111.94%,在叶发育后期(t_4、t_5时期)下降最慢,分别较t_1相对减少49.85%、61.86%和51.54%、68.82%。由此表明,适宜浓度的6-BA处理在叶生长前期可促进SP合成,在叶生长后期可缓解SP分解。相同浓度6-BA处理下的叶SP含量各发育期均表现为低密度>高密度,且在不喷施6-BA(CK)叶发育前期(t_2时期)、10 mg·L^{-1}、20 mg·L^{-1}、30 mg·L^{-1} 6-BA处理叶发育中期及后期(t_3及t_4、t_5时期)呈差异显著性,表明减小种植密度可一定程度促进叶SP的累积,从而有助于增加其渗透调节能力。

两种密度种植下的唐古特白刺在喷施不同浓度6-BA后,叶各发育期脯氨酸(Pro)含量随6-BA浓度的增加呈先增后降趋势,10 mg·L^{-1} 6-BA处理下各发育期Pro含量均显著高于对照。除10 mg·L^{-1} 6-BA处理高密度下生长的白刺叶例外,其他处理





注:CK、10、20、30分别表示6-BA浓度0 mg·L^{-1}、10 mg·L^{-1}、20 mg·L^{-1}、30 mg·L^{-1};t_1、t_2、t_3、t_4、t_5分别表示5次取样时间;图中不同大写字母表示不同6-BA浓度处理间差异显著($P<0.05$);不同小写字母表示不同取样时间差异显著($P<0.05$);*表示不同密度之间差异显著($P<0.05$),**表示不同密度之间差异极显著($P<0.01$)。下同。

图2　喷施6-BA对不同种植密度白刺叶绿素含量的影响

Fig. 2　Effects of spraying 6-BA on chlorophyll content of *Nitraria tangutorum* with different planting densities

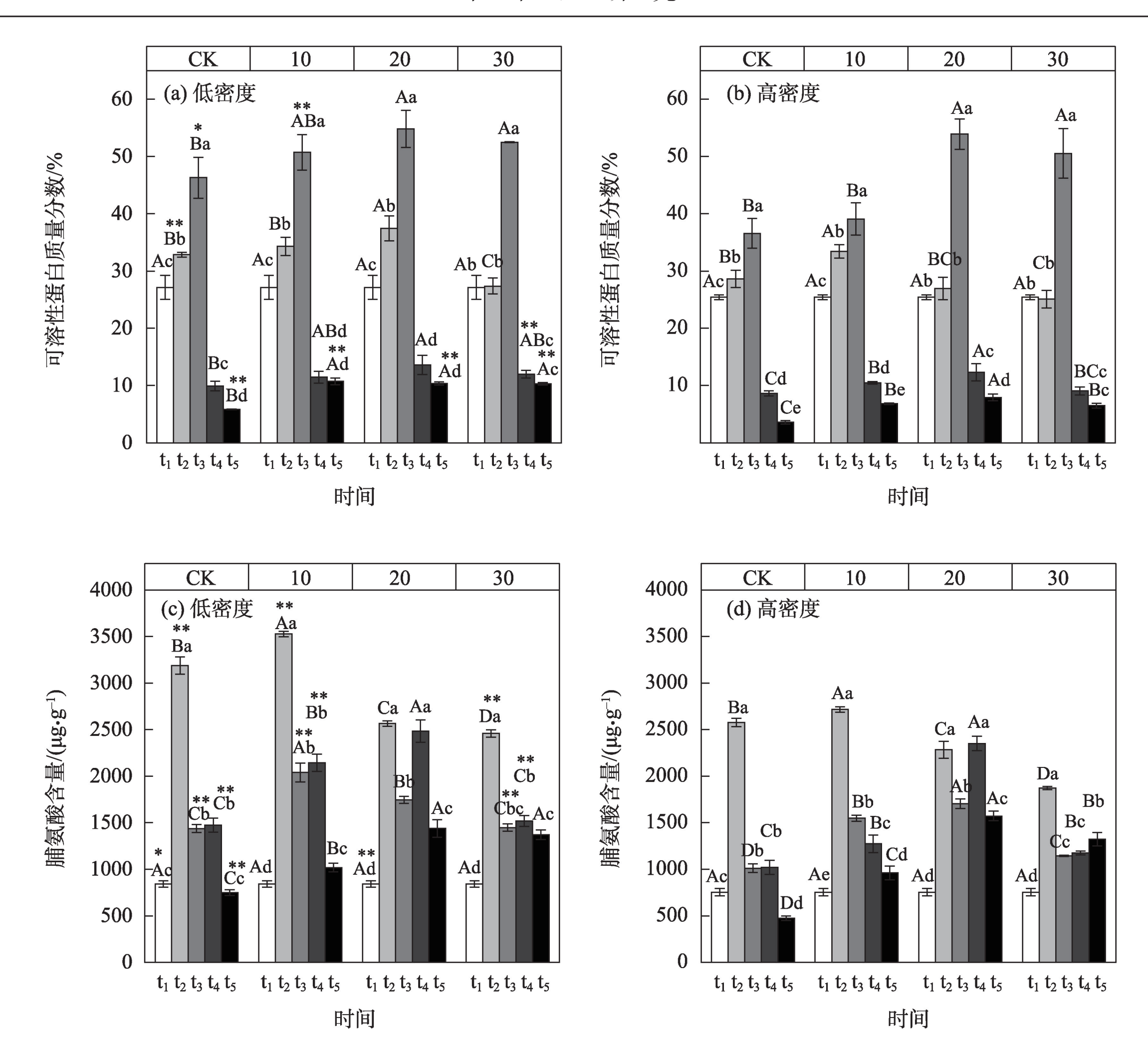


图3 喷施6-BA对不同种植密度白刺叶可溶性蛋白及脯氨酸含量的影响

Fig. 3 Effects of spraying 6-BA on soluble protein and proline contents of *Nitraria tangutorum* with different planting densities

以及对照组白刺叶在发育中后期(t_3至t_5时期)Pro含量均呈下降之后再回升之势。其中,20 mg·L^{-1} 6-BA处理下低密度和高密度种植的白刺叶Pro含量在t_4时期均显著回升,较t_3时期分别显著增加42.41%和38.14%,之后Pro含量逐渐下降。30 mg·L^{-1} 6-BA处理高密度种植的白刺叶Pro含量在发育后期一直呈回升趋势,至t_5时期较t_3显著增加15.64%。相同浓度6-BA处理下的叶Pro含量各发育期均表现为低密度>高密度,且在CK、10 mg·L^{-1}、30 mg·L^{-1} 6-BA处理下除个别发育期外均差异显著。结果表明,连续喷施适当浓度6-BA可一定程度缓解Pro降解并有利于其在叶片中的累积,种植密度可影响白刺叶Pro合成,从而影响叶的生理代谢过程。

2.4 喷施6-BA对不同种植密度白刺叶MDA和H_2O_2的影响

低密度种植下的唐古特白刺在喷施不同浓度6-BA后,各采样期叶中丙二醛(MDA)及过氧化氢(H_2O_2)含量都低于对照(图4),其中,20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度下生长的白刺叶MDA及H_2O_2含量在各时期都显著低于对照,MDA在t_2、t_3、t_4、t_5时期较相同取样时间对照分别显著降低53.51%、35.80%、14.35%、28.17%,H_2O_2在t_2、t_3、t_4、t_5时期较相同取样时间对照分别显著降低19.54%、17.94%、33.90%、26.51%。20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度下生长的白刺叶MDA含量在叶发育的t_2、t_3、t_4、t_5时期较t_1时期均有增加,但相较其他处理上升幅度均为最小;该处理下H_2O_2含量在叶发育的t_3时期开始下降,且在t_4时期显著低于t_1,随着叶片成熟并逐渐衰老,t_5时期叶H_2O_2含量呈上升趋势,但相较其他处理,相对增加值最小,较t_1降幅最大,达38.41%。表明喷施该浓度6-BA可相对有效地抑制叶片衰老过程中活性氧代谢及脂质过氧化作用导致的过量MDA及H_2O_2的产

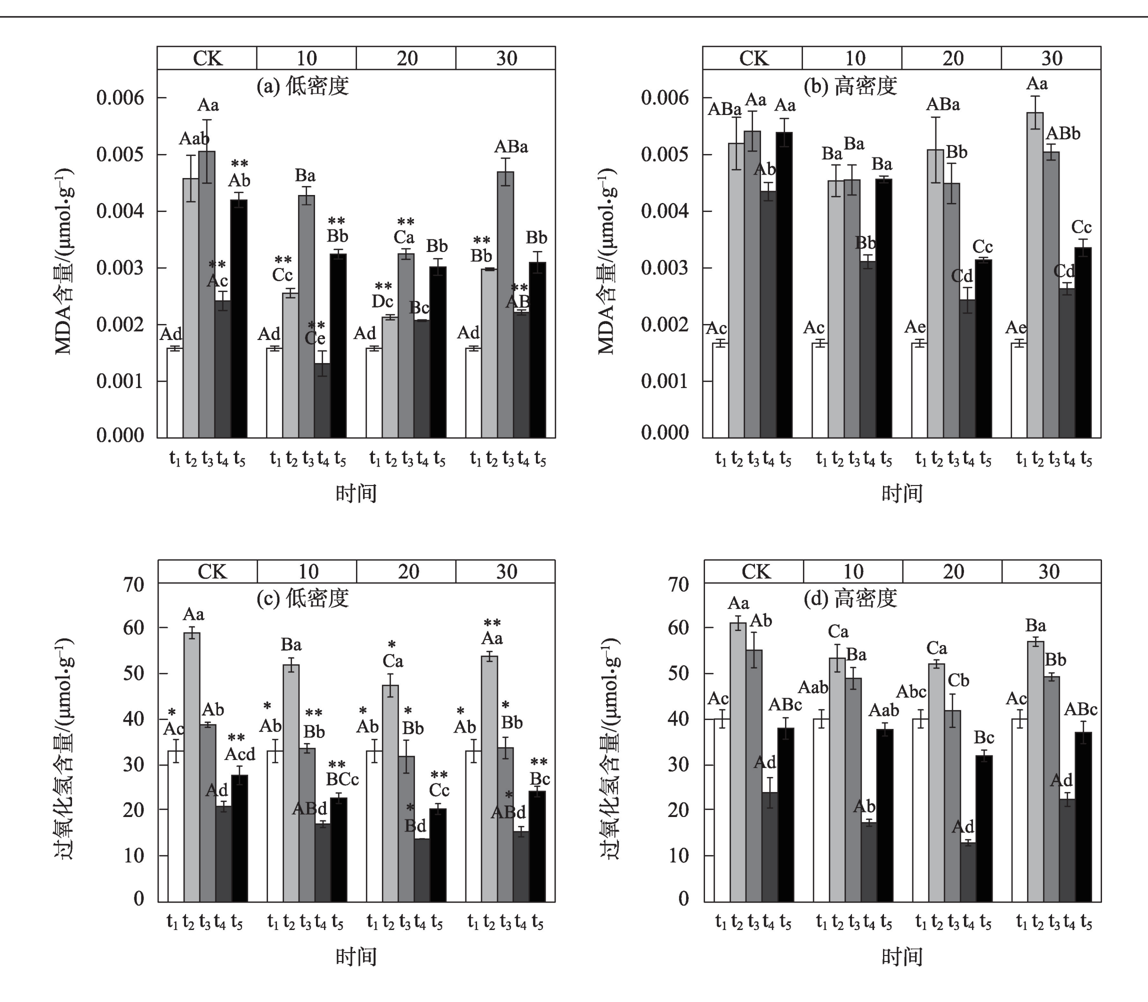


图4　喷施6-BA对不同种植密度白刺叶MDA及H_2O_2含量的影响

Fig. 4　Effects of spraying 6-BA on MDA and H_2O_2 contents of *Nitraria tangutorum* with different planting densities

生。相同浓度6-BA处理下的叶MDA及H_2O_2含量在各采样期均表现为低密度＜高密度，且在各浓度不同发育时期均表现出差异显著性。

2.5　喷施6-BA对不同种植密度白刺叶抗氧化酶活性的影响

为减轻氧化应激，植物体主要依靠保护酶系统以增强其自由基清除和脂质过氧化缓解能力。图5结果表明，在叶片发育的t_2、t_3时期，各浓度6-BA处理的SOD活性均呈上升趋势，且显著高于t_1。至t_4、t_5时期，10 mg·L^{-1} 6-BA处理的SOD仍呈上升趋势，20 mg·L^{-1} 6-BA处理后t_5时期叶SOD活性较对照有所下降。30 mg·L^{-1} 6-BA处理下两种密度种植的白刺叶SOD活性在t_4、t_5时期均降至低于对照。表明喷施适宜浓度6-BA可促进白刺叶生长期间活性氧清除酶活性的提升或抑制酶活性下降，过高浓度6-BA处理则会抑制SOD活性，加速其分解。2种种植密度下20 mg·L^{-1} 6-BA处理POD活性最高且显著高于对照，该处理下t_2时POD活性上升最快，分别较t_1显著升高21.11%、34.17%，t_5时POD活性下降最慢，分别较t_4降低4.27%、21.48%。低种植密度下各时期CAT活性均高于对照，且10 mg·L^{-1} 6-BA处理各个时期CAT活性显著高于对照，该处理下两种种植密度均表现为t_2时期升高最快，分别较t_1显著升高196.86%、205.25%，20 mg·L^{-1}、30 mg·L^{-1} 6-BA处理t_5时期降低最慢，分别较t_4降低17.48%、23.05%和26.19%、33.28%。相同浓度6-BA处理的3种酶活性均表现为低密度>高密度，且20 mg·L^{-1}、30mg·L^{-1} 6-BA处理t_5时差异显著。表明适宜浓度6-BA处理以及适宜的种植密度可以激活白刺叶生长前期抗氧化酶或促进其活性的增加，减缓叶生长后期酶活性下降，有利于催化还原叶H_2O_2及抑制其MDA生成，从而有效防止叶片衰老。

2.6　白刺叶衰老各性状指标的主成分分析及综合评价

对白刺的8个衰老性状指标进行主成分分析，按累积贡献率大于85%的标准，将原来8个单项指

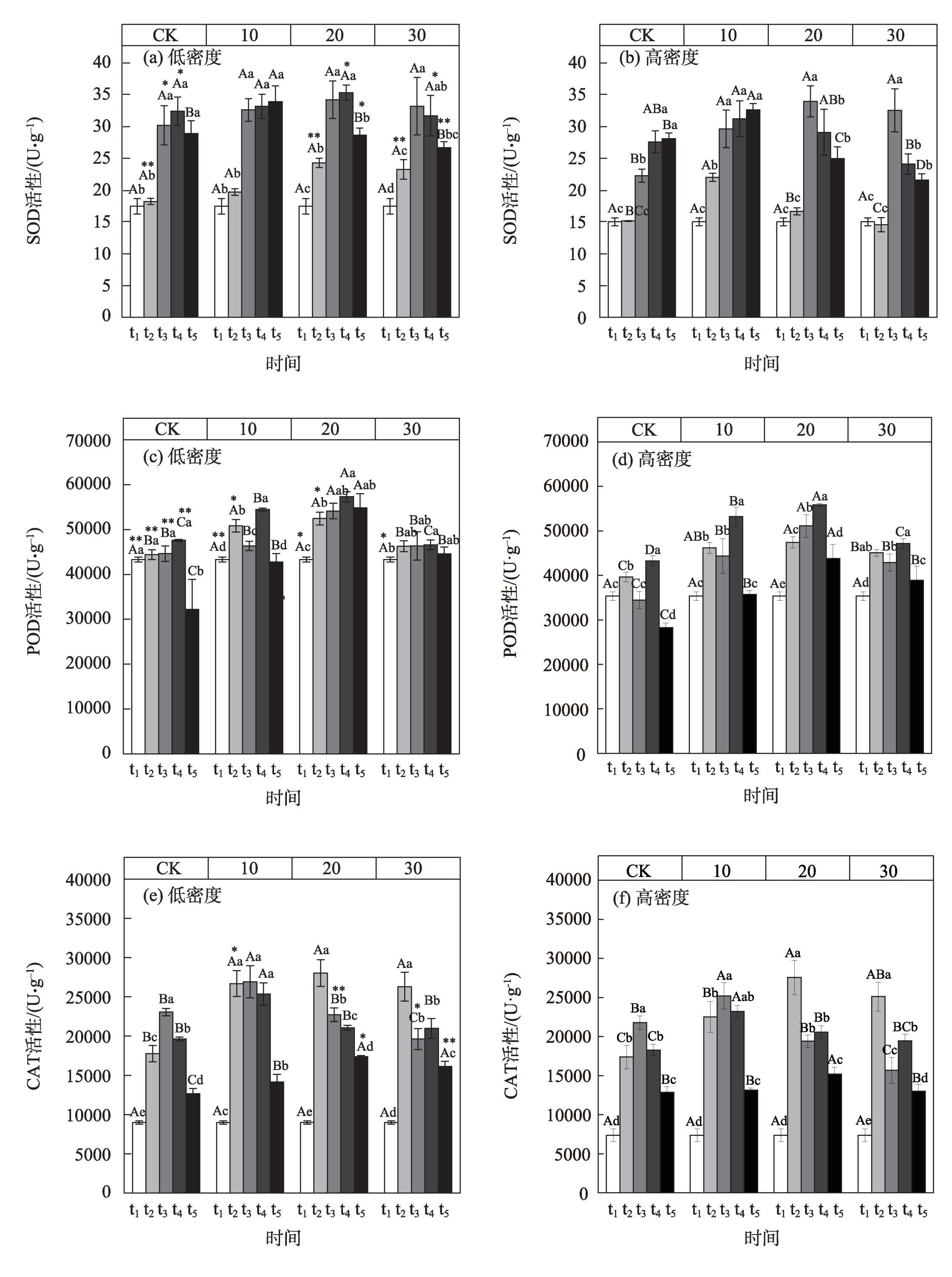


图5 喷施6-BA对不同种植密度白刺叶SOD、POD、CAT活性的影响

Fig. 5 Effects of spraying 6-BA on SOD, POD and CAT activity of *Nitraria tangutorum* with different planting densities

标转换为4个新的相互独立的综合指标(成分)。相关矩阵的主成分分析结果见表2,4个主成分累计方差贡献率达89.971%,可代替上述8个衰老性状指标对不同种植密度和6-BA处理进行评价。根据式(1)计算综合指标权重分别为0.427、0.350、0.152、0.071。

根据式(2)、(3)计算综合指标的隶属函数值$u(x_j)$和综合评价值D(表3),并根据D值大小进行排序。其中,低密度种植下喷施20 mg·L⁻¹ 6-BA时D值最大,表明白刺叶综合生长最佳,抗衰老能力最强,喷施30 mg·L⁻¹ 6-BA时D值最小,表明白刺叶综合生长最弱,抗衰老能力最差。

3 讨 论

3.1 种植密度和6-BA处理对白刺光合特征及叶绿素的影响

植物积累有机物的光合作用过程主要由叶绿素参与完成，叶绿素的动态变化和植物叶片光合参数可以反映植物的生长和衰老过程[20]。本研究中，20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度下种植的白刺叶Pn、Tr及Gs最高，Ci最低，说明低密度种植和喷施20 mg·L^{-1} 6-BA可有效促进唐古特白刺叶光合作用的进行。结果分析可知，20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度下种植的白刺叶片Gs显著增加，这使得叶肉细胞的光合活性提高，从而导致Pn、Tr的提高。Ci降低是叶肉细胞光合活性增大乃至光合速率增高的结果[21]。白刺作为长命植物，其叶光合速率的提升可有效延长叶片持绿期，进而延缓叶片衰老。研究表明，植物衰老的进程受到机体严格控制[22]，叶片衰老肉眼可见的颜色变化与叶片内光合色素的含量有很大的关系。在本试验中，20 mg·L^{-1} 6-BA处理的Chl含量最高，且表现为低密度>高密度。说明低密度种植和喷施适宜浓度6-BA有利于维持白刺叶片叶绿体结构的稳定和促进Chl合成，通过改善和促进叶片光合代谢从而抑制其衰老过程。在栽培密度较小的环境里，植物个体的生长空间较大，受其他植株遮蔽的影响较小，有利于光合作用的有效进行[23]。植物在适宜的生境下充分利用光资源，达到最大限度利用现有资源和拓展生态位的生存策略[24]。赵莉等[25]、徐皓[26]的研究中也证明不同浓度6-BA处理百合和蚕豆叶片均能提高Chl含量，并且延缓Chl降解；低密度种植，叶片光照面积增大，减少"光饥饿"的发生，降低Chl的分解，从而使Chl含量保持在

表2　各性状主成分的特征向量及贡献率

Tab. 2　Eigenvectors and percentage of accumulated contribution of principal components

性状	成分一		成分二		成分三		成分四	
	特征向量载荷	载荷	特征向量载荷	载荷	特征向量载荷	载荷	特征向量载荷	载荷
Chl	0.470	0.824	−0.086	−0.137	0.022	0.023	0.608	0.436
Pro	0.478	0.838	−0.089	−0.142	−0.354	−0.370	0.159	0.114
SP	0.377	0.661	0.165	0.262	0.612	0.639	0.026	0.018
POD	0.307	0.538	−0.468	−0.743	0.027	0.029	−0.036	−0.026
SOD	0.176	−0.309	−0.389	−0.616	0.637	0.665	0.156	0.112
CAT	0.444	0.778	−0.115	−0.183	0.100	0.104	−0.761	−0.546
H_2O_2	0.294	0.561	0.502	0.796	−0.041	−0.043	0.016	0.011
MDA	−0.001	−0.001	0.568	0.900	0.284	0.297	0.019	0.013
特征值	3.076		2.516		1.091		0.515	
贡献率/%	38.455		31.448		13.636		6.430	
累计贡献率/%	38.455		69.903		83.539		89.971	

表3　不同处理隶属函数值及综合评价值

Tab. 3　The value of membership function and comprehensive evaluation under different treatment

处理		综合指标值				隶属函数值				D	排名
密度	浓度	成分一	成分二	成分三	成分四	$u(x_1)$	$u(x_2)$	$u(x_3)$	$u(x_4)$		
高密度	CK	−1.252	1.768	−0.125	−0.115	0	1	0.483	0.312	0.445	6
	10	0.088	0.480	0.276	−0.321	0.564	0.641	1	0	0.617	2
	20	0.219	−0.128	−0.112	0.018	0.620	0.471	0.500	0.514	0.542	3
	30	−0.591	1.045	−0.499	0.083	0.278	0.798	0	0.612	0.442	7
低密度	CK	−0.452	0.643	−0.196	0.339	0.337	0.686	0.391	1	0.515	5
	10	0.617	−1.115	0.128	−0.255	0.787	0.196	0.810	0.099	0.535	4
	20	1.122	−1.818	0.259	0.326	1	0	0.979	0.981	0.646	1
	30	−0.099	−0.551	−0.134	−0.128	0.486	0.353	0.472	0.292	0.423	8

较高水平，有效延长叶片的持绿期，延缓叶衰老进程。

3.2 种植密度和6-BA处理对白刺渗透调节物质的影响

不同的渗透调节物质在应对不同环境下累积状况不同，其保护细胞的功能也有较大的差异[27]。SP是维持植物体正常生理活动的重要渗透调节物质。一般认为，植物衰老时叶片的SP含量会随着光合性能的降低和酶类物质活性的改变而逐渐降低[28]。本研究中，喷施20 mg·L^{-1} 6-BA在叶生长前期可显著促进SP合成，后期可有效缓解SP降解。较低的种植密度也相对有利于叶中SP的累积。但当6-BA浓度为30 mg·L^{-1}时，出现了SP合成抑制，即"高抑低促"。张海娜[29]的研究也表明，适宜浓度的6-BA处理能够增加小麦、棉花叶片中的SP含量。SP参与植物的各项生命代谢活动，可以缓解植物衰老进程中膜系统的损伤[30]，其含量变化可间接确定膜系统受损程度和体内代谢水平及发育状态[31]。Pro具有良好的水溶性，作为亲和性的渗透调节物质维持着细胞内外的渗透平衡，甚至可能直接影响蛋白质的稳定性，对生物大分子的结构与稳定性起一定保护作用[32]，减慢SP、Chl等的降解。试验中，Pro和SP变化趋势大致相同，连续喷施适当浓度6-BA可一定程度缓解Pro降解并有利于其在叶片中的累积。较低种植密度也有利于白刺叶Pro合成。这表明，适宜种植密度和6-BA处理可通过促进SP和Pro等生物大分子合成[33]，调节叶片内的渗透平衡，在延缓白刺叶衰老中具有重要调控作用。

3.3 种植密度和6-BA处理对白刺活性氧代谢的影响

低水平的活性氧不会对细胞膜产生毒害作用，但当活性氧积累过多则会引起细胞膜脂过氧化加剧，造成氧化胁迫，加剧衰老。本试验中20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度下生长的白刺叶MDA及H_2O_2含量在各时期都显著低于对照。20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度下生长的白刺叶MDA及H_2O_2含量在叶发育后期（t_5时期）呈上升趋势，但相较其他处理，相对增加值最小。进一步研究叶片活性氧代谢相关保护酶（SOD、POD、CAT）活性的变化发现，10 mg·L^{-1}和20 mg·L^{-1} 6-BA处理可激活白刺叶生长前期抗氧化酶或促进其活性的增加，减缓叶生长后期酶活性下降。低密度种植下3种酶活性相对高密度较好。SOD、POD、CAT作为植物体内抗氧化清除机制中的相关抗氧化物酶[34]，能够清除其外界环境影响和自身衰老所产生的自由基，减缓氧化损伤[35]，维持植株正常生长。上述研究结果表明，适宜的种植密度和6-BA处理可以通过改变保护酶活性有利于催化还原叶H_2O_2及抑制其MDA生成，缓解白刺叶生长过程中自由基的积累，减轻膜脂过氧化作用，保持细胞膜的稳定性，从而有效延缓和防止叶片衰老[8]。

4 结 论

20 mg·L^{-1} 6-BA处理和低密度种植白刺可显著提高叶光合速率和降低胞间CO_2浓度，该处理对白刺叶衰老相关生理特性的改善还表现为在叶发育的t_1至t_3时期可有效促进Chl和SP合成，t_4、t_5时期可有效缓解Chl、SP、Pro降解和抑制MDA、H_2O_2含量增加。10 mg·L^{-1}和20 mg·L^{-1} 6-BA处理可促进白刺叶生长前期抗氧化酶SOD、POD、CAT活性的增加，减缓叶生长后期酶活性下降。相同浓度6-BA处理的3种酶活性均表现为低密度>高密度。主成分及隶属函数分析综合表明，20 mg·L^{-1} 6-BA处理低密度下种植的白刺叶片抗衰老能力最强。因此，喷施6-BA和减小种植密度为缓解白刺叶衰老、实现白刺高效种植及资源有效开发利用的重要技术措施。

参考文献（References）：

[1] 彭凯轩, 章薇, 朱晓仙, 等. 细胞分裂素延缓叶片衰老的机制研究进展[J]. 植物生理学报, 2021, 57(1): 12-18. [Peng Kaixuan, Zhang Wei, Zhu Xiaoxian, et al. Research progress on the mechanisms of cytokinin-inhibited leaf senescence[J]. Plant Physiology Communications, 2021, 57(1): 12-18.]

[2] Wang Y, Yang Z M, Zhang Q F, et al. Enhanced chilling tolerance in *Zoysia matrella* by pre-treatment with salicylic acid, calcium chloride, hydrogen peroxide or 6-benzylaminopurine[J]. Biologia Plantarum, 2009, 53(1): 179-182.

[3] 朱立保, 刘海河, 张彦萍, 等. 6-BA对厚皮甜瓜坐果节位叶片衰老及果实品质的影响[J]. 北方园艺, 2014, 38(19): 20-23. [Zhu Libao, Liu Haihe, Zhang Yanping, et al. Effect of 6-BA on leaf senescence on fruiting-node and fruit quality of muskmelon[J]. Northern Horticulture, 2014, 38(19): 20-23.]

[4] 张海娜, 李存东, 肖凯. 外源6-BA对棉花光合和叶片衰老特性的调控效应研究[J]. 棉花学报, 2007, 34(6): 467-471. [Zhang

Haina, Li Cundong, Xiao Kai. Regulation effects of exogenous 6-BA on photosynthesis and leaf senescence in cotton[J]. Cotton Science, 2007, 34(6): 467-471.]

[5] 王孝娣, 刘凤之, 王帅, 等. 氨基酸硒和6-BA对葡萄叶片衰老和叶绿体超微结构的影响[J]. 中国果树, 2019, 43(6): 49-53. [Wang Xiaodi, Liu Fengzhi, Wang Shuai, et al. Effects of amino acid selenium and 6-BA on leaf senescence and chloroplast ultrastructure of grape[J]. China Fruits, 2019, 43(6): 49-53.]

[6] 何丽娟, 祁娟, 马红萍, 等. 6-BA对盐胁迫下老芒麦幼苗生长及生理特性的影响[J]. 草业科学, 2018, 35(9): 2174-2182. [He Lijuan, Qi Juan, Ma Hongping, et al. Effect of 6-BA on the growth and physiological characteristics of *Elymus sibiricus* seedlings under salt stress[J]. Pratacultural Science, 2018, 35(9): 2174-2182.]

[7] 李顺文. 6-BA对草莓叶片衰老的调节作用[J]. 落叶果树, 2003, 38(5): 5-6. [Li Shunwen. Benefit of 6-BA to preventing senescence of strawberry leaves[J]. Deciduous Fruits, 2003, 38(5): 5-6.]

[8] 李明. 不同种植密度下油菜产量形成、叶片衰老及根系形态研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015. [Li Ming. Studies on the Yield Formation, Leaf Senescence and Root Morphology Under Different Planting Densities of Oilseed Rape[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2015.]

[9] 贾志锋, 马祥, 琚泽亮, 等. 氮肥和种植密度对燕麦叶片衰老特性及细胞结构的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(1): 80-87. [Jia Zhifeng, Ma Xiang, Ju Zeliang, et al. Effects of nitrogen fertilizer and plant density on oat leaf senescence characteristics and cell structure[J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(1): 80-87.]

[10] 胡文河, 王兴录, 刘振库. 不同密度水稻抽穗后生理特性的研究[J]. 吉林农业大学学报, 2006, 28(6): 594-596, 605. [Hu Wenhe, Wang Xinglu, Liu Zhenku. Study on rice physiological characters for different planting density after earing[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2006, 28(6): 594-596, 605.]

[11] 李珍, 李毅, 苏世平, 等. 唐古特白刺抗旱优良家系早期选择研究[J]. 干旱区研究, 2020, 37(5): 1301-1309. [Li Zhen, Li Yi, Su Shiping, et al. Early selection of superior families with high drought resistance in *Nitraria tangutorum*[J]. Arid Zone Research, 2020, 37(5): 1301-1309.]

[12] 武志博, 邓娟, 田永祯, 等. 四种白刺属植物叶饲用品质分析及评价[J]. 甘肃农业大学学报, 2017, 52(6): 97-100. [Wu Zhibo, Deng Juan, Tian Yongzhen, et al. Analysis and evaluation forage quality of four *Nitraria species*[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2017, 52(6): 97-100.]

[13] 樊光辉, 马玉林. 青海4种灌木的营养成分测定与分析[J]. 西北林学院学报, 2010, 25(6): 138-139. [Fan Guanghui, Ma Yulin. Proximate nutrients of 4 shrubs in Qinghai[J]. Journal of Northweat Forestry University, 2010, 25(6): 138-139.]

[14] 史婵, 杨秀清, 闫海冰. 盐胁迫下唐古特白刺叶片的扫描电镜观察[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2017, 37(1): 35-39. [Shi Chan, Yang Xiuqing, Yan Haibing. Microscopic structure of leaves in *Nitraria tangutorum* under salinity stress[J]. Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2017, 37(1): 35-39.]

[15] 张永超, 梁国玲, 秦燕, 等. 老芒麦衰老过程中叶片叶绿素和光合作用变化特征及对养分的响应[J]. 草业学报, 2022, 31(1): 229-237. [Zhang Yongchao, Liang Guoling, Qin Yan, et al. Characteristics of chlorophyll and photosynthesis in leaves and their response to nutrients during aging of *Elymus sibiricus*[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2022, 31(1): 229-237.]

[16] 母养秀, 张久盘, 穆兰海, 等. 不同播种密度对荞麦植株叶片衰老及产量的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(1): 40-42. [Mu Yangxiu, Zhang Jiupan, Mu Lanhai, et al. Effects of different sowing densities on leaf senescence and yield of buckwheat[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(1): 40-42.]

[17] 杨秀艳, 张华新, 唐欣, 等. 我国白刺植物资源及其开发利用[J]. 世界林业研究, 2013, 26(5): 64-68. [Yang Xiuyan, Zhang Huaxin, Tang Xin, et al. *Nitraria resources* in China and their utilization [J]. World Forestry Research, 2013, 26(5): 64-68.]

[18] 路文静, 李奕松. 植物生理学实验教程[M]. 北京: 中国林业出版社, 2012: 44-48, 77-78, 126-129, 132-135. [Lu Wenjing, Li Yisong. Experimental Course in Plant Physiology[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2012: 44-48, 77-78, 126-129, 132-135.]

[19] 荆瑞勇, 卫佳琪, 王丽艳, 等. 基于主成分分析的不同水稻品种品质综合评价[J]. 食品科学, 2020, 41(24): 179-184. [Jing Ruiyong, Wei Jiaqi, Wang Liyan, et al. Comprehensive quality evaluation of different rice varieties based on principal component analysis[J]. Food Science, 2020, 41(24): 179-184.]

[20] 张永超, 梁国玲, 秦燕, 等. 老芒麦衰老过程中叶片叶绿素和光合作用变化特征及对养分的响应[J]. 草业学报, 2022, 31(1): 229-237. [Zhang Yongchao, Liang Guoling, Qin Yan, et al. Characteristics of chlorophyll and photosynthesis in leaves and their response to nutrients during aging of *Elymus sibiricus*[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2022, 31(1): 229-237.]

[21] 陈根云, 陈娟, 许大全. 关于净光合速率和胞间CO_2浓度关系的思考[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(1): 64-66. [Chen Genyun, Chen Juan, Xu Daquan. Thinking about the relationship between net photosynthetic rate and intercellular CO_2 concentration[J]. Plant Physiology Communications, 2010, 46(1): 64-66.]

[22] 田畅. 行向和行距对玉米叶片衰老的影响研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2019. [Tian Chang. Effects of Row Direction and Row Spacing on Leaf Senescence in Maize[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2019.]

[23] 许伟, 买文选, 赵振勇, 等. 栽培密度对新疆蓖麻产量构成的影响[J]. 干旱区研究, 2016, 33(6): 1364-1369. [Xu Wei, Mai Wenxuan, Zhao Zhenyong, et al. Effect of planting density on castor yield composition in Xinjiang[J]. Arid Zone Research, 2016, 33(6): 1364-1369.]

[24] 文军, 赵成章, 李群, 等. 黑河中游湿地胡杨蒸腾速率与叶性状的关联性分析[J]. 干旱区研究, 2021, 38(2): 429-437. [Wen Jun,

Zhao Chengzhang, Li Qun, et al. Studies of correlation between the transpiration rate and leaf traits of *Populus euphratica* in the middle reaches of the Heihe River wetland[J]. Arid Zone Research, 2021, 38(2): 429-437.]

[25] 赵莉, 潘远智, 朱峤, 等. 6-BA、GA_3和IBA对香水百合叶绿素含量及抗氧化物酶活性的影响[J]. 草业学报, 2012, 21(5): 248-256. [Zhao Li, Pan Yuanzhi, Zhu Qiao, et al. Effects of 6-BA, GA3 and IBA on photosynthetic pigment content and related enzyme activities of Lilium casa blanca[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2012, 21(5): 248-256.]

[26] 徐皓. 6-BA对蚕豆离体叶片衰老的延缓作用[J]. 江苏农业科学, 2008, 36(4): 49-51. [Xu Hao. Effect of 6-BA treatment on retarding senescence in detached leaves of *Vicia faba*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2008, 36(4): 49-51.]

[27] 王新英, 史军辉, 刘茂秀, 等. 洪水漫溢对塔里木河中游天然胡杨林叶渗透调节物质及抗氧化酶活性的影响[J]. 干旱区研究, 2020, 37(6): 1544-1551. [Wang Xinying, Shi Junhui, Liu Maoxiu, et al. Effects of flood overtopping on leaf osmotic adjustment substances and antioxidant enzyme activities of natural *Populus euphratica* forest in the middle reaches of the Tarim River[J]. Arid Zone Research, 2020, 37(6): 1544-1551.]

[28] 郭艳阳, 刘佳, 朱亚利, 等. 玉米叶片光合和抗氧化酶活性对干旱胁迫的响应[J]. 植物生理学报, 2018, 54(12): 8. [Guo Yanyang, Liu Jia, Zhu Yali, et al. Responses of photosynthetic and antioxidant enzyme activities in maize leaves to drought stress[J]. Plant Physiology Communications, 2018, 54(12): 8.]

[29] 张海娜. 6-BA和氮素调控小麦、棉花叶片衰老的生理机制及衰老相关基因鉴定[D]. 保定: 河北农业大学, 2008. [Zhang Haina. The Physiological Mechanism of Leaf Senescence Regulated by 6-BA and Nitrogen and Identification of Senescence- Related in Wheat Cotton[D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2008.]

[30] 程程, 周威, 王晓冰, 等. 不同树龄国槐光合特性和抗氧化酶活性比较研究[J]. 西北林学院学报, 2018, 33(3): 7-13. [Cheng Cheng, Zhou Wei, Wang Xiaobing, et al. Photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activity of *Sophora japonica* with different ages[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2018, 33(3): 7-13.]

[31] 杨卫民, 杜京旗, 赵君. 6-BA、IAA、GA_3与ABA对木枣果实成熟衰老的调控作用[J]. 生物技术通报, 2016, 32(1): 88-91. [Yang Weimin, Du Jingqi, Zhao Jun. The regulation of 6-BA, IAA, GA3 and ABA on the ripening and senescence of Mu Jujube's Fruits (*Ziziphus jujuba* L.) [J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(1): 88-91.]

[32] 陈璐, 张小丽, 高柱, 等. 喷施硝酸镧对脐橙叶片渗透调节物质的影响[J]. 中国农学通报, 2021, 37(29): 114-119. [Chen Lu, Zhang Xiaoli, Gao Zhu, et al. Effect of lanthanum nitrate spraying on osmotic regulating substance accumulation in navel orange leaves[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(29): 114-119.]

[33] Morita K. Release of nitrogen from chloroplasts during leaf senescence in rice (*Oryza sativa* l)[J]. Annals of Botany, 1980, 46(3): 297-302.

[34] 杨晓红, 陈晓阳, 刘克锋. 细胞分裂素对植物衰老的延缓作用[J]. 热带亚热带植物学报, 2006, 14(3): 7. [Yang Xiaohong, Chen Xiaoyang, Liu Kefeng. The role of cytokinins in retarding of senescence in plants[J]. Journalof Tropicaland Subtropical Botany, 2006, 14(3): 7.]

[35] 马婷燕, 李彦忠. 外源甜菜碱对NaCl胁迫下紫花苜蓿种子萌发及幼苗抗性的影响[J]. 草业科学, 2019, 36(12): 3100-3110. [Ma Tingyan, Li Yanzhong. Effects of exogenous betaine on alfalfa seed germination and seedling resistance under NaCl stress[J]. Pratacultural Science, 2019, 36(12): 3100-3110.]

Effects of spraying 6-BA on senescence of *Nitraria tangutorum* leaves at different planting densities

JIN Wei, WANG Chenlin, REN Yuchen, ZHANG Huifang, YANG Xiuqing

(College of Forestry, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, Shanxi, China)

Abstract: To explore the effect and mechanism of 6-BA and planting density on leaf senescence of *Nitraria tangutorum*, after spraying 6-BA of different concentrations (0, 10, 20, and 30 mg·L^{-1}) on *Nitraria tangutorum* under two planting densities (low density plant spacing: 1.2 m × 1.5 m, high density plant spacing: 0.8 m × 1.0 m), we studied the dynamic changes and variation in leaf photosynthetic parameters (Pn, Tr, Gs, and Ci), chlorophyll, leaf osmoregulation substance content (Pro and SP), active oxygen metabolism, and antioxidant enzyme activity. Results showed that under 20 mg·L^{-1} 6-BA treatment, the Pn, Tr, and Gs of *Nitraria tangutorum* planted at low density were significantly higher than those without 6-BA treatment by 37.72%, 117.94%, and 83.18%, respectively, and Ci was significantly lower by 32.29% than that of the control. Compared with the physiological indices related to leaf senescence under the two planting densities of other 6-BA treatments, the 20 mg·L^{-1} 6-BA treatment of *Nitraria tangutorum* planted at low density can effectively promote the synthesis of Chl and SP in the early stage of leaf development (period t_1 to t_3); effectively alleviate the degradation of Chl, SP, and Pro; and inhibit the increase in malondialdehyde and H_2O_2 content in the later stage (period t_4 to t_5). Under the treatment of 10 and 20 mg·L^{-1} 6-BA, the antioxidant enzymes in the early growth stage of *Nitraria tangutorum* can be promoted, or their peroxidase, superoxide dismutase, and catalase activities can be increased. In addition, the decline in enzyme activities in the later growth stage of *Nitraria tangutorum* can be slowed down. The activities of the three enzymes treated with the same concentration of 6-BA showed low density > high density. The analysis of principal components and membership functions revealed that the anti-senescence ability of leaves under low density planting was the strongest when the leaves were treated with 20 mg·L^{-1} 6-BA every 10 days (eight times in total) from flower budding to fruit shedding. Spraying of 6-BA and reduced planting density can be used as important technical measures to alleviate leaf senescence and realize efficient planting and effective resource exploitation.

Keywords: *Nitraria tangutorum*; 6-Benzyl adenine (6-BA); planting density; physiological characteristics of leaf senescence